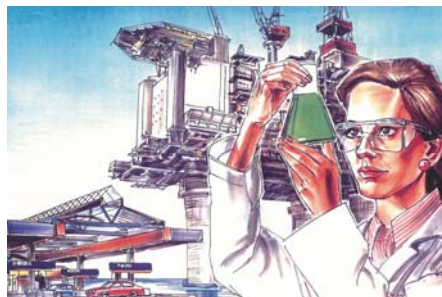


PKS



Produktteknisk kompetanse- og servicesenter

BESTEMMELSE AV BAKTERIER OG SOPP I OLJEPRODUKTER MED MICROBMONITOR²

Innhold

1	FORMÅL OG BEGRENSNINGER.....	2
2	REFERANSEDOKUMENT	2
3	DEFINISJONER.....	2
4	SAMMENDRAG.....	2
5	SIKKERHET	3
6	RAPPORTERING	3
7	PRESISJON	3
8	PROBLEMER.....	3
9	UTSTYR	4
10	REAGENSER.....	4
11	KALIBRERING/KONTROLL	4
12	PROSEDYRER.....	4
12.1	Prøvepunkt	4
12.2	Prøvetaking	4
12.3	Analyse av diesel, Jet A-1 og andre drivstoff	5
12.4	Analyse av smøre og hydraulikkoljer	5
12.5	Analyse av vannfasen i drivstoff og oljer.	5
12.6	Inkubasjon.....	6
12.7	Avlesing/rapportering	6
12.8	Reingjøring/avfallshåndtering.....	6
12.9	Lagring og håndtering av MicrobMonitor ²	6

1 FORMÅL OG BEGRENSNINGER

Formål

Overvåking av mengde mikrober (sopp og bakterier) i oljeprodukter.

Mikrobevekst i oljeprodukter som parafin (fyringsparafin, Jet A-1 osv) og gassoljer (diesel, lette fyringsoljer) kan føre til at bl.a. oljen brytes ned, det dannes emulsjoner og ”slam” ol. Dette kan igjen føre til driftsforstyrrelser i motorer og prosesssystemer, med bl.a. tetting av rør og filter, korrosjonsskader osv.

Testmetoden kan brukes for påvisning av mikrober i både olje- og vannfase.

Begrensninger

Metoden angir den totale mengden mikrober. Den skiller ikke mellom sopp og bakterier eller hvilken type/art av mikrobe det kan være.

2 REFERANSEDOKUMENT

Instruksjonsfolder som følger med testkittet fra MicrobMonitor².

3 DEFINISJONER

MicrobMonitor²: ”Testflaske” med vekstmedium for bakterier, gjær og sopp.

cfu, colony forming units: Antall kolonier av mikrober pr volumenhet.
Et tall for antall levende mikrober i prøven pr volumenhet.
For eksempel 10 cfu/ml = 10 000cfu/L osv Dvs 10 levende mikrober pr milliliter eller 10 000 levende mikrober pr liter.

Inkubasjonstid: Den tiden en preparert prøve må stå ved gunstige vekstbetingelser, fra prøven er blandet med vekstmediet til avlesning gjøres.

4 SAMMENDRAG

Testutstyret består av en flaske med skrukork. Flasken inneholder en viskøs næringsgel (geleaktig vekstmedium). Dette mediet fremmer vekst av bakterier, gjær og sopp. En gitt mengde prøve tilsettes næringsgelen fra medfølgende steril sprøyte (0,1 til 2ml) eller test-loop (for små mengder prøve: 0,01 ml). Etter at prøven er blandet godt med vekstmediet, inkuberes prøven, i et varmeskap ved 28 til 30 ° C, i opp til 4 dager. Utviklingen i prøveflasken følges daglig. Hvis prøven er mikrobeinfisert vil det, i en infisert prøve, etter 4 dager vises rosa/røde ”kolonier” i prøveflasken. En kan da telle antall kolonier, antall cfu, eller sammenligne med kalibrerings kartet som følger med prøvesettet. Resultatet av analysen rapporteres som: antall cfu pr. volumenhet, for eksempel cfu/ml. (Det er viktig at volumangivelse rapporteres).

5 SIKKERHET

- Utvis forsiktighet ved prøvetaking og les datablad for væsken det skal tas prøve av.
- Unngå kontakt med næringsgelen i MicrobMonitor² flasken. Alle typer for ”fremmedkontakt” vil forurense og ødelegge analysen.
- Bruk alltid kjemikaliebestandige hansker.
- Brukte MicrobMonitor² flasker må desinfiseres før de kastes, for eksempel med desinfeksjonssprit (70 % etanol), hypokloritt/Klorin el.l.

6 RAPPORTERING

Avlest resultat rapporteres som cfu pr ml eller cfu pr liter avhengig av mengde prøve som er tilsatt.

Eks.: 0,5 ml prøve tilsatt, gir 10 kolonier etter fire dager.
Resultatet rapporteres som 2×10^4 cfu pr L .

$$\text{(Beregning: } \frac{\text{antall kolonier}}{\text{testvolum(ml)}} \times 1000\text{ml/L} = \frac{10}{0,5} \times 1000 = 2 \times 10^4 \text{ cfu pr L)}$$

Se også Instruksjonsfolder med kalibreringskart som følger med testsettene.

7 PRECISION

- Jet A-1:
Anbefalt prøvemengde er 0,5 ml. Denne mengden har en nedre deteksjonsgrense på 2000 cfu pr liter og en øvre grense på 2×10^7 cfu pr liter.
For Jet A-1 kan prøvolumet, med fordel, økes til 1ml eller 2ml. Dette vil øke testens nøyaktighet.
- Diesel og andre drivstoff:
Anbefalt prøvemengde 0,25 ml. Denne mengden har en nedre deteksjonsgrense på 4000 cfu pr liter og en øvre grense på 4×10^7 cfu pr liter.
- Vann i forbindelse med drivstoff eller andre olje produkter:
Anbefalt prøvemengde er 0,01 ml prøve. Denne mengden har en deteksjonsgrense fra 100 cfu pr ml til over 10^6 pr ml.

Prøvene avleses daglig, opp til 4 dager etter inkubasjonen. Hvis prøven inkuberes ved lavere temperaturer enn 28 til 30 ° C, må inkubasjonstiden forlenges med ett par dager.

8 PROBLEMER

For å få et så nøyaktig resultat som mulig er det av stor betydning at prøvebehandling blir utført slik denne prosedyren beskriver.

Prøvolum, utover det som er anbefalt, kan gjøre at vekstmediet blir grått og tåkete. Dette gjelder spesielt for diesel.

Bestemmelse av bakterier og sopp i oljeprodukter med MicrobMonitor²

Når vannfasen i en oljeprøve skal analyseres med en testloop, kan det være vanskelig å ”få tak i vannfasen”. Problemet er at oljen fester seg på loopen når denne stikkes gjennom oljefasen, ned i vannfasen. Dette fører til at vannet ikke ”fester seg” til loopen, men preller av. Det er derfor en fordel å trekke ut en del av vannfasen med en steril sprøyte eller å overføre vannfasen til et separat, sterilt beger, før testloopen benyttes.

Resultatet forteller bare om tilstanden der prøven blir tatt, ikke i hele systemet.

9 UTSTYR

- MicrobMonitor²: En eske med 5 testsett, som består av forseglede prøveflasker med vekst medium, sterile sprøyter og prøvelooper (plastringer) for prøvetaking og instruksjonsfolder med kalibreringskart.
- Plastflasker à 30 eller 60 ml (engangs) for prøvetaking, helst sterile/aseptiske.

10 REAGENSER

Etanol eller denaturert sprit i en 70 % konsentrasjon ev. Klorin eller hypokloritt til desinfisering av brukte MicrobMonitor²-flasker med prøver.

11 KALIBRERING/KONTROLL

Metoden krever ingen kalibrering. Det er imidlertid en fordel å etablere en baselinje av hva som er ”normal” bakterie og sopp aktivitet i systemet. Dette gjøres ved å ta prøver over tid på forskjellige kritiske steder i systemet. Ut fra dette kan en så se om det oppstår unormal vekst av bakterier og sopp.

12 PROSEDYRER

12.1 Prøvepunkt

1. For å få et godt bilde av tilstanden i systemet, må en vite hvor en skal ta prøver.
2. Prøvepunktene bør være: I bunn av lagertank (laveste punkt), i tanken der pumpen suger fra og ett eller flere steder på forsyningslinjen, ev. lav-punkter, der det kan være muligheter for bakterie/sopp vekst.
3. Prøvelinjen bør være så kort som mulig, med god tilkomst og slik at en kan drenere/skylle igjennom linjen før prøvetaking.

12.2 Prøvetaking

1. Det er viktig å utføre prøvetakingen så sterilt som mulig.
2. Skyll prøvestussen med egnet desinfeksjonsvæske eller tørk med et reint tørkepapir, for å fjerne forurensinger.
3. Skyll/spyl igjennom prøvelinjen til en får en representativ prøve. La det renne med en rolig strøm.
4. Fyll prøven på en rein ny (steril/aseptisk) plastflaske slik at flasken ikke kommer i kontakt med prøvestussen eller at andre forurensinger kommer på flasken. Skru på korken.

12.3 Analyse av diesel, Jet A-1 og andre drivstoff

1. Rist prøven. Dersom prøven inneholder fritt vann bør dette testes separat .
2. Ta av korken på MicrobMonitor² flaska og plasser den på et reint underlag med åpningen opp.
3. Ta ut en steril sprøyte ved å åpne i den enden der stempelet sitter. Pass på så den nedre enden, tuppen av sprøyta, ikke kommer i berøring med noe, slik at den blir forurenset..
4. Sug opp et tilstrekkelig prøvevolum i sprøyta. Unngå å få luft i sprøyta.
5. Doser anbefalt/ønsket prøvevolum i MicrobMonitor² flaska. Unngå at sprøyta forurenser flaskas innside.
6. Jet A1: Anbefalt prøvevolum er 0,5 ml som vil detektere fra 2000 cfu/l til over 2×10^7 cfu/l . Prøvevolumet kan økes til 1 til 2ml for å øke nøyaktigheten.
7. Diesel og andre drivstoffer: Anbefalt prøvevolum 0,25 ml som vil detektere fra 4000 cfu/l til over 4×10^7 cfu/l
8. Skru korken på MicrobMonitor² flaska og merk den med dato og prøvenavn/nummer.
9. Bank forsiktig i flaska for å få gelen til å løsne og rist den så kraftig i ca 30 sek.
10. Dunk så på flaska slik at gelen samler seg på bunn av flaska og slik at ikke noe blir liggende i kork og flaskehals.
11. Legg umiddelbart flaska flatt på siden. Dunk på flaska slik at gelen blir liggende som et jevnt lag utover hele den største flaskeflaten (se illustrasjon i bruksanvisning). Pass på at gelen ligger jevnt utover hele flaten også ut i hjørnene.
12. Flaska inkuberes deretter. Se avsnitt 12.6.

12.4 Analyse av smøre og hydraulikkoljer

1. Utfør analysen som i punkt 12.3 ovenfor. I stede for å ta ut prøve med sprøyte brukes testloopen som følger med MicrobMonitor² settet.
2. Åpne loop pakken i enden, der håndtaket er, og ta ut loopen uten å forurense/berøre den nedre delen, selve loopen.
3. Stikk loopen ned i oljen til loopen er dekket av en væskefilm. Ta den ut og la overflødig olje renne av. Påse at sirkelen i loopen er dekket med en oljehinne. Denne hinnen tilsvarer et volum på 0,01 ml.
4. Stikk loopen ned i gelen på MicrobMonitor² flaska og rør rundt slik at prøven blir overført til gelen.
5. Ta ut loopen og sett på kork på flaska og merk den med dato og prøvenavn.
6. MicrobMonitor² flaska behandles vider som angitt i kap. 12.3 pkt 8 til 12 ovenfor.

12.5 Analyse av vannfasen i drivstoff og oljer.

1. Utfør analysen som i punkt 12.3 ovenfor. Ta imidlertid prøven slik at en får nok vann til en analyse, utskilt i bunnen av prøveflaska.
2. Skill olje og vannfase i egnet flaske/beger, eventuelt ta ut en vannprøve ved å senke en steril sprøyte ned gjennom oljen og sug opp litt vann.
3. Åpne loop pakken i enden, der håndtaket er, og ta ut loopen uten å forurense/berøre den nedre delen, selve loopen..
4. Dypp loopen i vannfasen, eventuelt drypp en dråpe vann på loopen, fra sprøyta. Pass på at loopen er dekket av en vannhinne. Vannet som dekker loopen er på 0,01 ml.
5. Dypp loopen i MicrobMonitor² gelen og roter slik at prøven blir overført til gelen.

Bestemmelse av bakterier og sopp i oljeprodukter med MicrobMonitor²

6. Skru på korken på MicrobMonitor² flaska og utfør samme behandling som i kap. 12.3 pkt 8 til 12.

12.6 Inkubasjon

Plasser flaska liggende, med flatsiden ned, i en inkubator (varmeskap) som holder en temp på 28 – 30°C, eller på et mørkt sted uten trekk og med en jevn temperatur på mellom 25 – 30°C. Følg daglig med på utviklingen i prøveflaskene. Etter 4 dager avleses prøvene. En lavere temp vil føre til at veksten går saktere og det kan gå opp til 6 dager før en kan lese av resultatet.

NB: La aldri MicrobMonitor² ligge i direkte sollys. Ikke rist på gelen etter at prøven er tilsatt og blandet inn i gelen. La alltid flaska ligge i samme posisjon under hele inkubasjonstiden.

12.7 Avlesing/rapportering

Observer utviklingen daglig i inntil 4 dager og les så av antall kolonier etter 4 dager. Pass på at en holder flasken flatt hele tiden slik at gelen ikke renner opp over siden. Legg flasken på et hvitt underlag og tell antall kolonier eller sammenlign med kalibrerings kartet.

Beregning: $\frac{\text{antall kolonier}}{\text{testvolum}(ml)} = \text{mikrobevekst cfu pr ml}$

eventuelt: $\frac{\text{antall kolonier}}{\text{testvolum}(ml)} \times 1000ml/L = \text{mikrobevekst cfu pr L}$

12.8 Reingjøring/avfallshåndtering

Desinfiser innholdet i prøveflaskene før de kastes. Fyll flaskene med en desinfeksjonsvæske for eksempel desinfeksjonssprit (70% etanol) eller hypokloritt. La det virke over natten. Etter desinfeksjonen kan flaskene behandles som annet avfall.

12.9 Lagring og håndtering av MicrobMonitor²

MicrobMonitor² har en lagringstid på 6 måneder fra produksjonsdato, hvis lagret tørt og mørkt ved ca. 22 °C. Lagringstiden kan økes til over ett år hvis flaskene ikke misfarges eller dehydrerer under lagring ved 2 – 8 °C.